

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la eficacia de la maduración superior a 60 días de los quesos de cabra y otras especies elaborados con leche cruda procedente de rebaños en los que se ha detectado la tuberculosis para garantizar su inocuidad

Número de referencia: AESAN-2021-011

Informe aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 28 de julio de 2021

Grupo de trabajo

Carlos Manuel Franco Abuín (Coordinador), Carlos Alonso Calleja, Pablo Fernández Escámez y Antonio Valero Díaz

Comité Científico

Carlos Alonso Calleja Universidad de León	Ángel Gil Izquierdo Consejo Superior de Investigaciones Científicas	Francisco J. Morales Navas Consejo Superior de Investigaciones Científicas	M^a del Carmen Recio Iglesias Universitat de València
Houda Berrada Ramdani Universitat de València	M^a José González Muñoz Universidad de Alcalá de Henares	Victoria Moreno Arribas Consejo Superior de Investigaciones Científicas	Ana M^a Rivas Velasco Universidad de Granada
Irene Bretón Lesmes Hospital Gregorio Marañón de Madrid	Isabel Hernando Hernando Universitat Politècnica de València	Silvia Pichardo Sánchez Universidad de Sevilla	Gloria Sánchez Moragas Consejo Superior de Investigaciones Científicas
Pablo Fernández Escámez Universidad Politécnica de Cartagena	Esther López García Universidad Autónoma de Madrid	M^a del Puy Portillo Baquedano Universidad del País Vasco	Antonio Valero Díaz Universidad de Córdoba
Carlos M. Franco Abuín Universidade de Santiago de Compostela	Sonia Marin Sillué Universitat de Lleida	Magdalena Rafecas Martínez Universitat de Barcelona	

Secretario técnico

Vicente Calderón Pascual

Resumen

El Real Decreto 1086/2020 por el que se regulan y flexibilizan determinadas condiciones de aplicación de las disposiciones de la Unión Europea en materia de higiene de la producción y comercialización de los productos alimenticios y se regulan actividades excluidas de su ámbito de aplicación, permite que, a nivel nacional, se pueda aplicar la flexibilidad contemplada en la normativa de la Unión Europea y utilizar la leche de rebaños que no cumplen los requisitos en relación con la brucelosis y la tuberculosis, recogiendo los mismos requisitos que en el Reglamento (CE) N^o 853/2004.

En el caso de rebaños de ovino y caprino que no cumplan los requisitos sobre tuberculosis, el Reglamento abre la puerta a otros posibles tratamientos que garanticen la inocuidad del alimento. Por ello, se ha solicitado al Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) que establezca si la maduración durante un periodo superior a 60 días de los quesos elaborados con leche cruda de cabra u otras especies sensibles a la tuberculosis distintas del bovino, procedente de hembras que no muestran una reacción positiva a las pruebas de tuberculosis ni presentan síntomas de esta enfermedad pero pertenecen a un rebaño donde se ha detectado la enfermedad, puede garantizar la inocuidad de dichos quesos en relación con la tuberculosis.

El Comité Científico ha concluido que, aunque la prevalencia de la tuberculosis en Europa es baja, la importancia de esta enfermedad a nivel mundial aconseja la máxima precaución en el control de las principales fuentes de contagio, siendo para las personas una de dichas fuentes la leche y productos lácteos no pasteurizados.

Las especiales características de resistencia de los agentes causales de la tuberculosis, son las principales responsables de su supervivencia en los productos lácteos, existiendo pocas diferencias entre ellos en relación con la especie de la cual procede la leche.

Se ha establecido tanto en la bibliografía científica clásica, como en la más reciente la supervivencia de los agentes causales de la tuberculosis durante períodos de tiempo superiores a los 60 días. Por lo cual no se puede garantizar que la maduración superior a 60 días elimine a los miembros del Complejo *Mycobacterium tuberculosis*.

Palabras clave

Tuberculosis, queso, supervivencia, *Mycobacterium tuberculosis*.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) on the effectiveness of maturation for more than 60 days for goat's cheese and cheese from other species produced from raw milk from herds where tuberculosis is detected, in order to ensure their safe consumption

Abstract

Royal Decree 1086/2020 which regulates and makes flexible certain conditions for applying the European Union's provisions on hygiene in the production and marketing of food products and regulates activities excluded from its area of application, permits the flexibility included in European Union regulations to be applied at the national level and to use milk from herds that do not fulfil the requirements with regard to brucellosis and tuberculosis, with the same requirements as in Regulation (EC) No. 853/2004.

In the case of ovine and caprine herds that do not fulfil the requirements for tuberculosis, the Regulation opens the doors to other possible processing methods that ensure food safety. Therefore, the

AESAN Scientific Committee has been requested to establish if maturation for a period greater than 60 days for cheeses produced with raw goat's milk or from other species sensitive to tuberculosis other than bovine tuberculosis, from females that do not have a positive reaction to tuberculosis tests or display symptoms of this disease but belong to a herd where it has been detected, may ensure the safety of these cheeses with regard to tuberculosis.

The Scientific Committee concludes that although the prevalence of tuberculosis in Europe is low, the global importance of this disease requires extreme precautions for monitoring the main sources of contagion, raw milk and dairy products being one of the main source of contamination in persons.

The special resistance of the causative agents of tuberculosis are one of the main reasons for its survival in dairy products, there being few differences between them with regard to the species that produces the milk.

Both classical references as well as more recent literature on the topic has established the survival of the causative agents of tuberculosis for periods greater than 60 days. For this reason, it cannot be guaranteed that maturation for a period greater than 60 days eliminates the members of the *Mycobacterium tuberculosis* complex.

Key words

Tuberculosis, cheese, survival, *Mycobacterium tuberculosis*.

Cita sugerida

Comité Científico AESAN. (Grupo de Trabajo) Franco, C.M., Alonso, C., Fernández, P. y Valero, A. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la eficacia de la maduración superior a 60 días de los quesos de cabra y otras especies elaborados con leche cruda procedente de rebaños en los que se ha detectado la tuberculosis para garantizar su inocuidad. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 2021, 34, pp: 39-51.

1. Introducción

La sección IX del anexo III del Reglamento (CE) N° 853/2004 por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal establece requisitos específicos para la producción de leche cruda, calostro, productos lácteos y productos a base de calostro (UE, 2004).

En el Capítulo I de la mencionada sección se recogen los requisitos sanitarios para para la producción de leche y cruda y calostro que, en relación con la tuberculosis, se concretan en los siguientes:

2.b) la leche cruda y el calostro deberán proceder de:

- i. vacas o búfalas que procedan de un rebaño que, con arreglo a la Directiva 64/432/CEE (UE, 1964), haya sido declarado oficialmente indemne de tuberculosis, o bien
 - ii. hembras de otras especies pertenecientes, en el caso de las especies sensibles a la tuberculosis, a rebaños inspeccionados periódicamente respecto a esta enfermedad según un plan de inspección aprobado por la autoridad competente
- (...)

3. Sin embargo, podrán utilizarse, con la autorización de la autoridad competente, leche cruda y calostro procedentes de animales que no cumplan los requisitos del punto 2:

- a. en el caso de las vacas y búfalas que no den positivo a las pruebas de la brucelosis o la tuberculosis ni presenten síntomas de estas enfermedades, tras haber sido sometidos a un tratamiento térmico hasta dar negativo a la prueba de la fosfatasa alcalina;
- b. en el caso de las ovejas o cabras que no den positivo a las pruebas de la brucelosis, o que hayan sido vacunadas contra la brucelosis en el marco de un programa autorizado de erradicación, y que no presenten síntomas de esta enfermedad:
 - i. ya sea para la elaboración de queso con un período de maduración de al menos 2 meses, o bien
 - ii. tras haber sido sometidos a un tratamiento térmico hasta dar negativo a la prueba de la fosfatasa alcalina, y
- c. en el caso de hembras de otras especies que no den positivo a las pruebas de la tuberculosis ni de la brucelosis ni presenten síntomas de estas enfermedades, pero pertenezcan a un rebaño en el que se hayan detectado estas enfermedades a raíz de las pruebas a que se refiere el punto 2, letra a), inciso iii), o el punto 2, letra b), inciso ii), si han sido sometidos a un tratamiento que garantice su inocuidad.

El artículo 12 del Real Decreto 1086/2020, por el que se regulan y flexibilizan determinadas condiciones de aplicación de las disposiciones de la Unión Europea en materia de higiene de la producción y comercialización de los productos alimenticios y se regulan actividades excluidas de su ámbito de aplicación, permite que, a nivel nacional, se pueda aplicar la flexibilidad contemplada en la normativa de la Unión Europea y utilizar la leche de rebaños que no cumplen los requisitos en relación con la brucelosis y la tuberculosis, recogiendo los mismos requisitos que en el Reglamento (BOE, 2020).

Así, mientras que la redacción del reglamento deja claro que la leche de vaca procedente de

rebaños que no cumplan los requisitos sobre la brucelosis y/o tuberculosis solo se podrá usar tras un tratamiento térmico, en el caso de la leche de otras especies susceptibles a la tuberculosis abre la puerta a otros posibles tratamientos que garanticen la inocuidad del alimento.

En el caso de rebaños de ovino y caprino que no cumplan los requisitos sobre brucelosis, se permite, además del tratamiento térmico, el uso de la leche para la elaboración de quesos con un período de maduración mínimo de 60 días. Sin embargo, esta posibilidad no se recoge expresamente en el caso de la tuberculosis.

Esta falta de claridad de la redacción del Reglamento ha dado lugar a numerosas consultas y a distintas interpretaciones por parte de las autoridades competentes.

A efectos de interpretar lo que se considera como “especie sensible” para la aplicación del Reglamento, tomamos como base el capítulo 8.11 actual del Código Sanitario de los Animales Terrestres de la OIE (2017) “Infección por el Complejo *Mycobacterium tuberculosis*”.

Según lo establecido en el mismo, para la aplicación del Reglamento (CE) N° 853/2004, se considerarán especies sensibles, en aquellas regiones o provincias no declaradas libres de tuberculosis, a los caprinos, camélidos y cérvidos (UE, 2004). Se podrá considerar a los ovinos como especie sensible solo si forman parte de un rebaño constituido fundamentalmente por bovinos y/o caprinos con estrecha convivencia entre ellos, siempre y cuando:

- a. se haya diagnosticado la enfermedad en dicho rebaño o
- b. los caprinos no cuenten con un plan de inspección aprobado por la autoridad competente.

Se ha solicitado al Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) un informe en el que se establezca si la maduración durante un periodo superior a 60 días de los quesos elaborados con leche cruda de cabra u otras especies sensibles a la tuberculosis (distintas del bovino), procedente de hembras que no muestran una reacción positiva a las pruebas de tuberculosis ni presentan síntomas de esta enfermedad pero pertenecen a un rebaño donde se ha detectado la enfermedad, puede garantizar la inocuidad de dichos quesos en relación con la tuberculosis.

2. El género *Mycobacterium* y la tuberculosis

Las bacterias del género *Mycobacterium* tienen una serie de características especiales que son responsables, en buena medida, del poder patógeno de este tipo de agentes. Es importante reseñar que, de las más de 170 especies que se incluyen taxonómicamente en dicho género, las que han acaparado la mayoría de la investigación son los agentes causales de la infección por el denominado Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTC), especialmente *Mycobacterium tuberculosis* (Fedrizzi et al., 2017). Las especies incluidas dentro del Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTC) son un grupo de especies relativamente parecidas responsables de la tuberculosis. Esta infección es una de las 10 mayores causas de muerte en personas a nivel mundial (Gagneux, 2018) (OMS, 2020). Las especies que se incluyen dentro del MTC son *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium microti* y *Mycobacterium pin-*

nipeditii (Riojas et al., 2018). De estas, *M. caprae* fue aislada de primariamente de lesiones de cabra en España (Aranaz et al., 1999). En un primer momento fue clasificada como una subespecie de *M. tuberculosis* y, finalmente, en 2003 fue reclasificada como especie (Aranaz et al., 2003). Como miembro del MTC también se han publicado múltiples casos tanto en personas (Cvetnic et al., 2007) (Prodingler et al., 2014) como en animales (Cvetnic et al., 2007) (Rodríguez, 2011) (Mendoza et al., 2012).

Si bien en las personas la enfermedad suele ser causada por *Mycobacterium tuberculosis*, todos los agentes incluidos en el MTC son susceptibles de infectarlas. Dentro de las especies del MTC, *M. bovis* suele ser responsable de una proporción importante de casos (de la Rúa-Domenech, 2006), que por lo demás resultan clínicamente indistinguibles de los causados por *M. tuberculosis*, y en algunos estudios alcanzan valores superiores al 30 % de los casos de tuberculosis en las personas (Torres-González et al., 2016). *M. bovis* es el agente causal de la tuberculosis en el ganado vacuno, sin embargo, se considera como un agente principal desde la óptica de la salud pública en países en desarrollo. En estos países el número de casos de tuberculosis en las personas atribuibles a *M. bovis* no es bien conocido (de la Rúa-Domenech, 2006). En algunos países avanzados un tercio de los casos de tuberculosis en las personas ha sido atribuido también a *M. caprae* (Kubica et al., 2003). Aunque la transmisión de la tuberculosis en las personas suele ser por inhalación de aerosoles o contacto directo por abrasiones en la piel, históricamente se han considerado la transmisión oral de *M. bovis* mediante ingestión de leche cruda de vacas infectadas o derivados lácteos obtenidos a partir de leche cruda como una de las puertas de entrada principales de estos patógenos.

La resistencia específica de las especies del MTC frente a diversos elementos exógenos es uno de los elementos centrales de su poder patógeno. Sin lugar a duda, su característica cápsula rica en lípidos, así como otros elementos, les confieren resistencia frente a las células del sistema inmune del hospedador. También su resistencia frente a valores de pH ácido favorece su supervivencia en los fagosomas de las células del sistema inmune. De este modo, la cápsula de *Mycobacterium* supone una primera barrera frente a un ambiente ácido. Un sistema de bombas de protones, y otros elementos son capaces de mantener el medio interno de estas bacterias con un pH neutro adecuado, aunque estén en un ambiente externo ácido (Vandal et al., 2009). Este mantenimiento de la homeostasis interna también ha sido señalado para otras micobacterias como *M. bovis*, que forma parte del MTC, y otras de crecimiento rápido que no forman parte del MTC como *M. smegmatis* (Rao et al., 2001) o *Mycobacterium avium* (Bodmer et al., 2000). Su capsula impermeable también se considera responsable de la gran resistencia intrínseca de *M. tuberculosis* a múltiples antimicrobianos, lo cual es un aspecto clave en el tratamiento de esta enfermedad. Si bien se ha señalado que la característica cápsula de estos agentes no puede explicar por sí sola su alta resistencia a los antibióticos (Morris et al., 2005). Otro aspecto especialmente relevante es la resistencia térmica de las micobacterias. En este sentido, mientras *M. bovis* ha demostrado ser sensible al tratamiento térmico de pasterización, incluso con alto nivel de inóculo, otras especies como *M. avium* han puesto de manifiesto una resistencia mucho mayor al tratamiento térmico (Grant et al., 1996).

En ocasiones sólo un animal o unos pocos animales dentro de un rebaño pueden ser eliminadores de estas micobacterias. Sin embargo, la gran excreción de bacilos de *Mycobacterium bovis* por ml de leche incluso en animales infectados de forma subclínica (de la Rúa-Domenech, 2006) hace que

se pueda distribuir fácilmente la contaminación. También se ha puesto de manifiesto la facilidad para la contaminación por *M. bovis* de la leche de un animal hacia los otros del rebaño a partir del equipamiento de ordeño (de la Rúa-Domenech, 2006). De este modo, se pone de manifiesto que, en virtud de la gran resistencia de este agente, en caso de haber uno o unos pocos animales infectados, los productos del rebaño son susceptibles de contaminarse con micobacterias. También el uso de tanques de frío y mezcla de leche de distintos animales es una garantía de contaminación de todo el producto. La contaminación por *M. bovis* también se ha descrito a partir de pasto, agua y otros elementos (Neill et al., 1994). Por otra parte, se ha demostrado que los animales negativos a pruebas intradérmicas de *M. bovis*, no suponen una prueba suficiente para identificar los animales como realmente negativos (Zarden et al., 2013).

3. Diferencias entre leche y queso de vaca y de cabra

Desde una óptica organoléptica se puede señalar que existen diferencias entre la leche de cabra y la leche de vaca, y también entre los quesos de vaca y cabra. Sin embargo, cuando se estudia la composición química, las diferencias no son tan evidentes. Clásicamente muchas de las principales proteínas de la leche de cabra se han señalado como similares a las de la leche de vaca (Jenness, 1980) e incluso algunas características enzimáticas de la leche de estos pequeños rumiantes podrían permitir un mayor crecimiento microbiano, como es el poseer menor actividad lipasa, ribonucleasa u oxidasa (Parkash y Jenness, 1968) que la leche de vaca. En cuanto al perfil lipídico, existen diferencias entre ambos tipos de leche, sobre todo en el contenido de ácidos grasos de cadena media (C6-C14) los cuales son mayores en leche de cabra, al igual que los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 y n-3. También los niveles de minerales, Ca, P, Mg, y Cu son mayores en las cenizas de la leche de cabra (Sanz Ceballos et al., 2009). Las diferencias en el perfil de ácidos grasos entre las leches de vaca y cabra son significativas para algunos compuestos. Sin embargo, la magnitud de la diferencia hace casi imposible que puedan tener un efecto sobre la supervivencia de estos agentes. Muchos ácidos grasos han sido clásicamente señalados como agentes con un potencial inhibitorio sobre las bacterias (Fay y Farias, 1975) (Wang y Johnson, 1992) (Kelsey et al., 2006). En este sentido, Sanz Ceballos et al. (2009) señalaron diferencias significativas en relación con la concentración de ácido linoleico conjugado (CLA, *Conjugated Linoleic Acid*), siendo significativamente mayor en la leche de cabra en comparación con la leche de vaca. Esta diferencia se estableció en +0,23 g/100 g de ácidos grasos totales. Diferencias similares a las también observadas entre quesos de vaca y cabra en relación con el CLA (Van Nieuwenhove et al., 2009). Según Choi (2016) la concentración mínima inhibitoria de CLA frente a *M. tuberculosis* sería de 200 µg/ml de CLA. Otros autores también han establecido una posible inhibición de diversas bacterias por el CLA e incluso efectos bactericidas (Byeon et al., 2009). Sin embargo, muchos de dichos efectos serían debidos a cambios en los lípidos de la pared bacteriana que provocan modificaciones de la permeabilidad. Dado el lento crecimiento de estos agentes, junto con la significativa pero baja diferencia entre la leche de vaca y cabra en cuanto a concentración de CLA, no parece que pueda hacer posible la existencia de diferencias entre ambos tipos de productos en relación con una mayor inhibición del crecimiento de *M. tuberculosis* o *M. bovis*.

No sólo las características bioquímicas diferentes entre leche de vaca y cabra deben de ser seña-

ladas, sino que también los cultivos adicionados o presentes en los productos fermentados pueden tener una influencia en el sentido de ser antagonistas o inhibir el crecimiento de *M. bovis* u otras micobacterias (Mariam, 2009, 2014). Aunque hay muchas sustancias inhibitorias que en condiciones normales se encuentran en los alimentos, en la práctica han demostrado su ineficacia para producir un efecto inhibitorio del crecimiento de patógenos en muchos alimentos, necesitando de dosis muy altas, o que simplemente pierden su eficacia fuera de las condiciones de laboratorio. Quizás el caso más conocido pueda ser el empleo de bacteriocinas, que son péptidos inhibitorios, los cuales a causa de los fenómenos proteolíticos que se producen por ejemplo en el queso, acaban siendo ineficaces en este tipo de productos. El empleo de estrategias concretas, como empleo de bacteriocinas, aceites esenciales, microbiota láctica específica etc., necesitarían ensayos específicos adicionales para caracterizar con precisión su eficacia frente a las micobacterias.

4. Prevalencia de tuberculosis causada por *Mycobacterium bovis* o *Mycobacterium caprae* en personas y animales

Según los datos proporcionados en el último informe de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) sobre zoonosis, en 2019 la incidencia de la tuberculosis en la Unión Europea causada por las especies de *M. bovis* o *M. caprae* fue ocasional en humanos, con 147 casos confirmados (EFSA, 2021). La tasa de notificación se ha mantenido igualmente baja entre 2015 y 2019, oscilando entre 0,03 y 0,05 casos/100 000 habitantes. Cabe destacar que desde 2004 nunca se han notificado a EFSA toxoinfecciones alimentarias asociadas a estas especies.

La mayor parte de los casos notificados en 2019 (69,4 %) tuvieron su origen en la Unión Europea. Aproximadamente 2/3 de los casos reportados se originaron en países considerados como no libres de tuberculosis.

Las tendencias mostradas en los niveles de prevalencia de la tuberculosis bovina en los distintos países de la Unión Europea corroboran que existe una evolución diferente entre aquellos considerados como oficialmente indemnes de tuberculosis (OTF) y los que no. En aquellos países OTF ha existido un descenso del 37,0 % y un 14,5 % en el número anual y la prevalencia de cabezas de ganado positivas, respectivamente en el periodo entre 2010 y 2019.

En cambio, para aquellos países no OTF, el número anual general de rebaños positivos reportados disminuyó proporcionalmente en un 8,6 %, mientras que la prevalencia aumentó en un 72,1 %. Este aumento en la prevalencia puede explicarse en parte por el aumento en el número de rebaños positivos que se detectan en estos países junto con una disminución importante en el número total de rebaños debido a los cambios en la designación de países a no OTF a OTF a lo largo del periodo 2010-2019.

En España, los Programas Nacionales de Erradicación de la Tuberculosis Bovina 2006-2010 supusieron un cambio cualitativo en el planteamiento de los objetivos, de forma que sentaron las bases para garantizar actuaciones continuadas en el tiempo bajo un enfoque plurianual, establecido en 5 años.

De acuerdo con la información recogida por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA, 2021), la prevalencia de rebaño de tuberculosis bovina en España ha ido descendiendo desde el año 2016, hasta situarse en un número inferior a 2 % en rebaños con animales positivos en 2019. Este

descenso ha venido promovido por el incremento de la sensibilidad diagnóstica y la aplicación de medidas contempladas en el Plan de Actuación sobre Tuberculosis en Especies Silvestres (PATUBES, 2017).

En cuanto a la incidencia en humanos, en España se notificaron en 2018 un total de 4386 casos de tuberculosis (9,39 casos/100 000 habitantes), siendo la mayoría de estos relacionados con tuberculosis pulmonar. Desde 2012 la incidencia total ha descendido un 6 % de media anual.

5. Transmisión de la tuberculosis por productos lácteos

Clásicamente, la leche y los productos lácteos han sido señalados como los elementos clave en la transmisión de tuberculosis causada por *M. bovis*, (Keogh, 1971) (Milian-Suazo et al., 2010). En este sentido, ya se ha señalado en diversas ocasiones la necesidad de continuar con los controles de la tuberculosis bovina y la pasteurización de los productos lácteos tras la descripción de brotes en base a la evidencia de transmisión de persona a persona por parte de *M. bovis*, tras una supuesta infección inicial a partir de una fuente ambiental originada por una tuberculosis bovina (Evans et al., 2007). De este modo, al margen de cualquier tipo de comprobación epidemiológica, también se ha identificado *M. bovis* en leche (Kazwala et al., 1998) (Leite et al., 2003) y en queso fresco elaborado con leche sin pasteurizar (Harris et al., 2007), o bien se ha identificado mediante técnicas moleculares (Cezar et al., 2016), lo cual supone la confirmación de lo que los datos epidemiológicos señalan. Por ejemplo, en este sentido, en el estudio epidemiológico de tuberculosis por *M. bovis* en Estados Unidos (Hlavsa et al., 2008) se puso de manifiesto que el 82,6 % de pacientes con tuberculosis causada por esta especie señalaban haber comido queso producido en México, relacionando también esta circunstancia con la mayor incidencia de tuberculosis en México y la fabricación de queso con leche cruda. Parece clara la evidencia de que el consumo de leche cruda con *Mycobacterium* se va a traducir en la transmisión de la enfermedad a las personas que consuman dicha leche sin tratamiento térmico. Sin embargo, se debe de abordar la supervivencia de los agentes del MTC durante la maduración de los quesos, dado que se podría pensar que los procesos bioquímicos que tienen lugar durante el madurado de este producto van a producir la eliminación del agente. Una vez más la bibliografía clásica ha evaluado esta circunstancia haciéndose eco de la gran resistencia de estas bacterias frente a diversos tipos de desinfectantes, ácidos, álcalis y, por lo tanto, siendo menos sensibles a la acidificación típica de los productos fermentados. Keogh (1971) y Hammer y Babel (1957) (citados por Keogh, 1971), revisaron la supervivencia de *M. tuberculosis* en una importante variedad de quesos llegando a la conclusión de que, aunque el tipo de queso influye en la mayor o menor supervivencia de este patógeno, este es capaz de sobrevivir durante más de 2 meses en la mayoría de los quesos para los que existían datos en aquel momento. Así, se citan 220 días de supervivencia en queso Cheddar, 305 días en Tilsit, 3 meses en Camembert. Otros autores como Frahm (1959), citado también por Keogh (1971), señalan la viabilidad de *M. tuberculosis* en quesos Camembert y Edam después de más de 2 meses y otros autores de mediados de siglo pasado, si bien señalan que existe declinación en el número de estas bacterias en queso Emmental hecho con leche contaminada artificialmente, también indican que después de 3 meses eran capaz de infectar cobayas y generar lesiones tuberculosas en estos animales de experimentación. También se documenta no solo la supervivencia en queso sino también en leche contaminada almacenada durante más de 4 meses. Asimismo, se encuentra referenciada la supervivencia de

M. bovis en mantequilla hasta al menos 100 días (Kleeberg 1984, citado por De la Rua-Domenech, 2006).

La mayoría de estos documentos científicos ofrecen datos que, a pesar de los años transcurridos, resultan robustos por el hecho de emplear pruebas confirmatorias biológicas, sumado al hecho de las características lesiones anatomopatológicas bien definidas que permiten un diagnóstico relativamente preciso. Sin embargo, resulta procedente el verificar si la bibliografía científica más reciente confirma la supervivencia de estos patógenos, que por lo demás parece firmemente asentada en sus características intrínsecas de supervivencia. De este modo podemos citar el trabajo de Forgrave et al. (2016) quienes investigaron la cinética de supervivencia de *M. bovis* durante la elaboración y el madurado de queso Cheddar y queso Caerphilly producidos en laboratorio con leche contaminada artificialmente con niveles altos y bajos de *M. bovis*. Los resultados mostraron que, a nivel de elaboración, *M. bovis* queda retenido en la cuajada al igual que otros patógenos y una proporción menor se pierde en el suero, determinándose también, como se ha señalado en la bibliografía clásica, una bajada en la viabilidad del patógeno, pero limitada. Así, *M. bovis* fue aislado de los quesos elaborados con nivel de inóculo alto ($\approx 4-6 \log \text{ufc/g}$ en el queso el primer día de maduración) después de 393 días en el caso del queso Cheddar y 145 días en el caso del queso Caerphilly. En el caso de los bajos niveles de inóculo ($\approx 3 \log \text{ufc/g}$) Forgrave et al. (2016) detectaron el patógeno en queso Cheddar hasta los 63 días y hasta los 56 días en queso Caerphilly. También Ramírez Starikoff et al. (2016) estudiaron la evolución de *M. bovis* y *Brucella abortus* durante la maduración de queso parmesano. Estos investigadores señalan que el desarrollo del pH ácido en el queso tiene un efecto importante en la reducción de la población de *Brucella abortus*, pero sin embargo, no parece tener importancia para el caso de *M. bovis*, lo cual coincide con todo lo señalado hasta el momento. Mientras para el caso de *Brucella abortus* no se cuentan colonias de este patógeno a partir del día 32, a pesar de emplearse un inóculo inicial relativamente alto (5,8 ufc/g), para el caso de *M. bovis* apenas se anota una disminución de 1,5 ciclos logarítmicos el día 63 de maduración, pasando de 5,5 log ufc/g el día 1 a 4,1 log ufc/g el día 63.

Conclusiones del Comité Científico

Aunque la prevalencia de la tuberculosis en Europa es baja, la importancia de esta enfermedad a nivel mundial aconseja la máxima precaución en el control de las principales fuentes de contagio, siendo para las personas una de dichas fuentes la leche y productos lácteos no pasteurizados.

Las especiales características de resistencia de los agentes causales de la tuberculosis, son las principales responsables de su supervivencia en los productos lácteos, existiendo pocas diferencias entre ellos en relación con la especie de la cual procede la leche.

Se ha establecido, tanto en la bibliografía científica clásica, como en la más reciente, la supervivencia en quesos de los agentes causales de la tuberculosis durante períodos de tiempo superiores a los 60 días. Por lo cual no se puede garantizar que la maduración superior a 60 días de los quesos elimine a los miembros del Complejo *Micobacterium tuberculosis*.

Las características concretas de los productos lácteos que puedan justificar la destrucción de estos agentes necesitarían comprobaciones científicas adicionales.

Referencias

- Aranaz, A., Cousins, D., Mateos, A. y Domínguez, L. (2003). Elevation of *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *Caprae* Aranaz et al. 1999 to species Rank as *Mycobacterium caprae* com. Nov., sp. Nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, pp: 1785-1789.
- Aranaz, A., Liébana, E., Gómez-Mampaso, E., Galán, J.C., Val Cousins, D., Ortega, A., Blazquez, J., Baquero, F., Mateos, A., Suárez, G. y Domínguez Rodríguez, L. (1999). *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *caprae* subsp. nov.: a taxonomic study of a new member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex isolated from goats in Spain. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49, pp: 1263-1273.
- Bodmer, T., Miltner, E. y Bermudez, L.E. (2000). *Mycobacterium avium* resists exposure to the acidic conditions of the stomach. *FEMS Microbiology Letters*, 182 (1), pp: 45-49.
- BOE (2020). Real Decreto 1086/2020, de 9 de diciembre, por el que se regulan y flexibilizan determinadas condiciones de aplicación de las disposiciones de la Unión Europea en materia de higiene de la producción y comercialización de los productos alimenticios y se regulan actividades excluidas de su ámbito de aplicación. BOE N° 322 de 10 de diciembre de 2020, pp: 112779-112816.
- Byeon, J.I., Song, H.S., Oh, T.W., Kim, Y.S., Choi, B.D., Kim, H.C., Kim, J.O., Shim, K.H. y Ha, Y.L. (2009). Growth inhibition of Foodborne and Pathogenic bacteria by Conjugated Linoleic Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, pp: 3164-3172.
- Cezar, R.D.S., Lucena-Silva, N., Borges, J.M., Santana, V.L.A. y Pinheiro Junior, J.W. (2016). Detection of *Mycobacterium bovis* in artisanal cheese in the state of Pernambuco Brazil. *International Journal of Mycobacteriology*, 5 (3), 269-272.
- Choi, W.H. (2016). Evaluation of anti-tubercular activity of linolenic acid and conjugated-linoleic acid as effective inhibitors against *Mycobacterium tuberculosis*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9 (2), pp: 125-129.
- Cvetnic, Z., Katalinic-Jankovic, V., Sostaric, B., Spicic, S., Obrovac, M., Marjanovic, S., Benic, M., Kirin, B.K. y Vickovic, I. (2007). *Mycobacterium caprae* in cattle and humans in Croatia. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 11 (6), pp: 652-658.
- De la Rua-Domenech, R. (2006). Human *Mycobacterium bovis* infection in the United Kingdom: Incidence, risks, control measures and review of the zoonotic aspects of bovine tuberculosis. *Tuberculosis*, 86, pp: 77-109.
- EFSA (2021). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 19 (2), pp: e06406.
- Evans, J.T., Smith, E.G., Banerjee, A., Smith, R.M.M., Dale, J., Innes, J.A., Hunt, D., Tweddell, A., Wood, A., Anderson, C., Glyn Hewinson, R., Smith, N.H., Hawkey, P.M. y Sonnenberg, P. (2007). Cluster of human tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis*: evidence for person-to-person transmission in the UK. *The Lancet*, 369, pp: 1270-1276.
- Fay, J.P. y Farias, R.N. (1975). The inhibitory Action of Fatty Acids on the Growth of *Escherichia coli*. *Journal of General Microbiology*, 91, pp: 233-240.
- Fedrizzi, T., Meehan, C.J., Grottole, A., Giacobazzi, E., Serpini, G.F., Tagliacuzzi, S., Fabio, A., Bettua, C., Bertorelli, R., De Sanctis, V., Rumpianesi, F., Pecorari, M., Jousson, O., Tortoli, E. y Segata, N. (2017). Genomic characterization of nontuberculous *Mycobacteria*. *Scientific Reports*, 7.
- Forgrave, R., Donaghy, J.A., Fisher, A. y Rowe, M.T. (2016). Survival Kinetics of *Mycobacterium bovis* during manufacture and ripening of raw milk Cheddar and Caerphilly cheese produced on a laboratory-scale. *Journal of Applied Microbiology*, 121, pp: 1457-1468.
- Frahm, K. (1959). Die Lebensdauer pathogener Mikroben in Milch und milcherzeugnissen insbesondere von Tuberkulosebakterien im Kase. *Kieler milchw Forsch Ber*, 11, pp: 333.
- Gagneux, S. (2018). Ecology and evolution of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nature Reviews Microbiology*, 16, pp: 202-213.
- Grant, I.R., Ball, H.J. y Rowe, M.T. (1996). Thermal inactivation of several *Mycobacterium spp.* In milk by pasteurization. *Letters in Applied Microbiology*, 22, pp: 253-256.

- Hammer, B.W. y Babel, F.J. (1957). En libro: *Dairy Bacteriology*, 4th ed. New York: John Wiley and Sons Inc.
- Harris, N.B., Payeur, J., Bravo, D., Osorio, R., Stuber, T., Farrell, D., Paulson, D., Treviso, S., Mikolon, A., Rodríguez-Lainz, A., Cernek-Hoskins, S., Rast, R., Ginsberg, M. y Kinde, H. (2007). Recovery of *Mycobacterium bovis* from soft fresh cheese originating in Mexico. *Applied and Environmental Microbiology*, 73 (3), pp: 1025-1028.
- Hlavsa, M.C., Moonan, P.K., Cowan, L.S., Navin, T.R., Kammerer, J.S., Morlock, G.P., Crawford, J.T. y LoBue, P.A. (2008). Human tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in the United States, 1995-2005. *Clinical Infectious Diseases*, 47, pp: 168-175.
- Jenness, R. (1980). Composition and characteristics of Goat milk: Review 1968-1979. *Journal of Dairy Science*, 63 (10), pp: 1605-1630.
- Kazwala, R.R., Daborn, C.J., Kusiluka, L.J.M., Jiwa, S.F.H., Sharp, J.M. y Kambarage, D.M. (1998). Isolation of *Mycobacterium* species from raw milk of pastoral cattle of the Southern Highlands of Tanzania. *Tropical Animal Health and Production*, 30, pp: 233-239.
- Kelsey, J.A., Bayles, K.W., Shafii, B. y McGuire, M.A. (2006). Fatty Acids and Monoacylglycerols inhibit Growth of *Staphylococcus aureus*. *Lipids*, 41 (10), pp: 951-961.
- Keogh, B.P. (1971). Reviews of the progress of Dairy Science: section B. The survival of pathogens in cheese and milk powder. *Journal of Dairy Research*, 38, pp: 91-110.
- Kleeberg, H.H. (1984). Human tuberculosis of bovine origin in relation to public health. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties*, 3, pp: 11-32.
- Kubica, T., Rüscher-Gerdes, S. y Niemann, S. (2003). *Mycobacterium bovis* subsp. *caprae* caused One-Third of Human M. *bovis*-Associated Tuberculosis Cases Reported in Germany between 1999 and 2001. *Journal of Clinical Microbiology*, July 2003, pp: 3070-3077.
- Leite, C.Q., Anno, I.S., Leite, S.R., Roxo, E., Morlock, G.P. y Cooksey, R.C. (2003). Isolation and identification of mycobacteria from livestock specimens and milk obtained in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98, pp: 319-323.
- MAPA (2021). Programa Nacional de erradicación de Tuberculosis bovina 2021 (Infección por el complejo *Mycobacterium tuberculosis*) Versión abril 2021. Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/programatb2021versionabril_tcm30-561045.pdf [acceso: 15-07-21].
- Mariam, S.H. (2009). Interaction between Lactic Acid Bacteria and *Mycobacterium bovis* in Ethiopian Fermented Milk: Insight into the Fate of M. *bovis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 75 (6), pp: 1790-1792.
- Mariam, S.H. (2014). Identification and survival studies of *Mycobacterium tuberculosis* within laboratory-Fermented bovine milk. *BMC Research Notes*, 7.
- Mendoza, M.M., de Juan, L., Menéndez, S., Ocampo, A., Mourelo, J., Sáez, J.L., Domínguez, L., Gortázar, C., García Marín, J.F. y Balseiro, A. (2012). Tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium caprae* in sheep. *The Veterinary Journal*, 191 (2), pp: 267-269.
- Milian-Suazo, F., Pérez-Guerrero, L., Arriaga-Díaz, C. y Escartín-Chávez, M. (2010). Molecular epidemiology of human cases of tuberculosis by *Mycobacterium bovis* in Mex S, august 23, 102 (34), pp: 12200-12205.
- Neill, S.D., Pollock, J.M., Bryson, D.B. y Hanna, J. (1994). Pathogenesis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. *Veterinary Microbiology*, 40, pp: 41-52.
- OIE (2017). Organización Mundial de la Sanidad Animal. Código Sanitario para los Animales Terrestres. Infección por el complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Capítulo 8.11. Disponible en: https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahc/current/es_chapitre_bovine_tuberculosis.htm [acceso: 21-07-21].
- OMS (2020). Organización Mundial de la Salud. Global Tuberculosis Report 2020. Geneva.
- Parkash, S. y Jenness, R. (1968). The composition and characteristics of goats' milk: A review. *Dairy Science Abstracts*, 30, pp: 67.
- PATUBES (2017). Plan de Actuación sobre Tuberculosis en Especies Silvestres. Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/patubes2017_3_tcm30-378321.pdf [acceso: 15-07-21].

- Prodinger, W.M., Indra, A., Koksalan, O.K., Kilicaslan, Z. y Richter, E. (2014). *Mycobacterium caprae* infection in humans. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 12 (12), pp: 1501-1513.
- Ramirez Starikoff, K., Diniz Fontanesi, C., Moraes Maciel, F., Yumi Ikuta, C., Ferreira, F., Soares Ferreira Neto, J., Augusto Dias, R., Amaku, M., Cortez, A., Heinemann, M.B., Hildebrand Grisi-Filho, J.H., Picão Gonçalves, V.S. Fonseca da Silva, P.H., Jacinto de Paula, J.C. y Oliveira Telles, E. (2016). Decline in *Mycobacterium bovis* and *Brucella abortus* populations during the maturation of experimentally contaminated parmesan-type cheese. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, 37 (5), supl 2, pp: 3743-3758.
- Rao, M., Streur, T.L., Aldwell, F.E. y Cook, G.M. (2001). Intracellular pH regulation by *Mycobacterium smegmatis* and *Mycobacterium bovis* BCG. *Microbiology (Reading)* apr 147 (Pt4), pp: 1017-1024.
- Riojas, M.A., Gough, K.J.Mc., Rider-Riojas, C.J., Rastogi, N. y Hernando Hazbon, M. (2018). Phylogenomic analysis of the species of the *Mycobacterium tuberculosis* complex demonstrates that *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium microti* and *Mycobacterium pinnipedii* are later heterotypic synonyms of *Mycobacterium tuberculosis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68, pp: 324-332.
- Rodríguez, S., Bezos, J., Romero, B., de Juan, L., Álvarez, J., Castellanos, E., Moya, N., Lozano, F., Javed, M.T., Sáez-Llorente, J.L., Liébana, E., Mateos, A., Domínguez, L., Aranaz, A. y Spanish Network on Surveillance and Monitoring of Animal Tuberculosis (2011). *Mycobacterium caprae* infection in livestock and wildlife, Spain. *Emerging infectious diseases*, 17 (3), pp: 532-535.
- Sanz Ceballos, L., Ramos Morales, E., de la Torre Adarve, G., Díaz Castro, J., Pérez Martínez, L. y Sanz Sampelayo, M.R. (2009). Composition of goat and cow milk produced under similar conditions and analyzed by identical methodology. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22 (4), pp: 322-329.
- Torres-González, P., Cervera-Hernandez, M.E., Martínez-Gamboa, A., García-García, L., Cruz-Hervert, L.P., Bobadilla-del Valle, M., Ponce-de Leon, A. y Sifuentes-Osornio, J. (2016). Human tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis*: a retrospective comparison with *Mycobacterium tuberculosis* in a Mexican tertiary care centre, 2000–2015. *BMC Infectious Diseases*, 16, pp: 657.
- UE (1964). Directiva 64/432/CEE del Consejo, de 26 de junio de 1964, relativa a problemas de policía sanitaria en materia de intercambios intracomunitarios de animales de las especies bovina y porcina. DO L 121 de 29 de julio de 1964, pp: 1977-2012
- UE (2004). Reglamento (CE) N° 853/2004, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. DO L 139 de 30 de abril de 2004, pp: 55-205.
- Van Nieuwenhove, C.P., Oliszewski, R. y González, S.N. (2009). Fatty acid composition and conjugated linoleic acid content of cow and goat cheeses from Northwest Argentina. *Journal of Food Quality*, 32 (3), pp: 303-314.
- Vandal, O.H., Nathan, C.F. y Ehrt, S. (2009). Acid Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Bacteriology*, 191 (15), pp: 4714-4721.
- Wang, L.L. y Johnson, E.A. (1992). Inhibition of *Listeria monocytogenes* by Fatty Acids and Monoglycerides. *Applied and Environmental Microbiology*, 58 (2), pp: 624-629.
- Zarden, C.F.O., Marassi, C.D., Figueiredo, E.E.E.S. y Lilenbaum, W. (2013). *Mycobacterium bovis* detection from milk of negative skin test cows. *Veterinary Record*, feb 2, 2013.